

PCT/JP 00/06566

20.11.00

10/1088907

JP 00/6566

日本国特許庁

PATENT OFFICE

JAPANESE GOVERNMENT

EKU

REC'D	04 DEC 2000
WIPO	PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

2000年 7月14日

出願番号

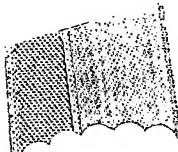
Application Number:

特願2000-213613

出願人

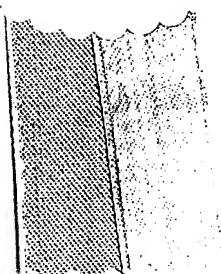
Applicant(s):

出光興産株式会社



PRIORITY DOCUMENT

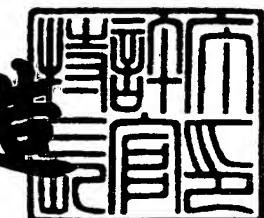
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



2000年10月27日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3087775

【書類名】 特許願
 【整理番号】 N00-0088
 【あて先】 特許庁長官殿
 【国際特許分類】 C02F 3/00
 【発明の名称】 外因性内分泌攪乱物質の分解方法
 【発明者】

【住所又は居所】 千葉県袖ヶ浦市上泉1280番地
 【氏名】 鈴木 源士

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県袖ヶ浦市上泉1280番地
 【氏名】 川端 孝博

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県袖ヶ浦市上泉1280番地
 【氏名】 宮本 秀夫

【特許出願人】

【識別番号】 000183646
 【氏名又は名称】 出光興産株式会社

【代理人】

【識別番号】 100081765

【弁理士】

【氏名又は名称】 東平 正道

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 032517
 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0000761

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 外因性内分泌攪乱物質の分解方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水に、微生物および／または酵素を接触させることを特徴とする外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

【請求項2】 外因性内分泌攪乱物質が、ハロゲン化ビフェニル類、ハロゲン化ダイオキシン類、アルキルフェノール類、ビスフェノール類およびフタル酸エステル類の群から選択される物質である請求項1に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

【請求項3】 微生物が、糸状菌である請求項1または2に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

【請求項4】 糸状菌が、トラメテス (*Trametes*) 属、シゾフィラム (*Schizophyllum*) 属、プレウロタス (*Pleurotus*) 属、ファネロキー (*Phanerochaete*) 属、フナリア (*Funalia*) 属、レンチナス (*Lentinus*) 属、メルリウス (*Merulius*) 属、ジエルカンデラ (*Berkandera*) 属、フィクノポラス (*Pycnoporus*) 属、アガリクス (*Agaricus*) 属、フォリオータ (*Pholiota*) 属、フラムリナ (*Flammulina*) 属、ガノデルマ (*Ganoderma*) 属、ダエダレオプシス (*Daedaleopsis*) 属、オーリキュラリア (*Auricularia*) 属、セリポリオプシス (*Ceriporiopsis*) 属、シアサス (*Cyathus*) 属、オーレオバシディウム (*Aureobacodium*) 属、ファボラス (*Favolus*) 属、リオフィラム (*Lyophyllum*) 属およびリゾクトニア (*Rhizoctonia*) 属に属する菌から選択される1種または2種以上の菌である請求項3に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

【請求項5】 酵素が、ラッカーゼ、リグニンペルオキシダーゼおよびマンガンペルオキシダーゼの群から選択される酵素である請求項1または2に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

【請求項6】 微生物および／または酵素を担体に固定化して汚染水に接触

させる請求項1～5のいずれかに記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、汚染水に含まれる外因性内分泌攪乱物質の分解方法に関する。さらに詳しくは、外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水に、微生物および／または酵素を接触させて分解する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、自然界に放出された外因性内分泌攪乱物質が動物の体内に蓄積し、種々の問題を引き起こすことが懸念されている。この外因性内分泌攪乱物質は、環境中に偏在して、ホルモンと類似の作用を示し、内分泌を攪乱する化学物質のことを指し、環境ホルモン様物質と呼ばれることがある。そして、この外因性内分泌攪乱物質には、様々な化学物質が知られており、農薬中の特定成分や化学工業における原料や製品、さらにごみや産業廃棄物の焼却処理時に生成する特定の化学物質などがある。

【0003】

これら外因性内分泌攪乱物質は、ごく微量であっても野性動物の生態や人体への健康障害、例えば免疫系や内分泌系、神経系に対する影響が大きいことから、自然界に存在する外因性内分泌攪乱物質を分解して無害化することが望まれている。ところが、この外因性内分泌攪乱物質は、一般に自然界に長期間放置しても容易に分解されることのない物質である。

【0004】

通常、化学工業や廃棄物処理においては、外因性内分泌攪乱物質などの生物に対して有害な物質を含む廃水や廃液は、活性炭などの多孔性物質に吸着させたり、分離膜により分離するなどの方法により捕捉されている。このようにして捕捉された有害物質は、さらに、熱や酸、アルカリ、オゾン、光などによって分解して無害化する必要がある。この場合、これら熱や酸、アルカリなどによる有害物質の分解には、多大のエネルギーを必要とするほか、そのような設備への搬送に

伴って二次汚染が引き起こされる危険性もあるという問題がある。

【0005】

そこで、このような外因性内分泌攪乱物質を、より簡易に、かつ多大のエネルギーを消費することなく、分解して無害化することができる方法の開発が要望されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、汚染水に含まれる外因性内分泌攪乱物質を、簡易に、かつ多大のエネルギーを消費することなく、分解して無害化する方法を提供することを目的とするものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、前記課題を解決するために銳意研究を重ねた結果、少なくとも外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水に、微生物および／または酵素を接触させることにより、上記目的を達成することができることを見出し、これら知見に基づいて本発明を完成するに至った。

【0008】

すなわち、本発明の要旨は、下記のとおりである。

(1) 外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水に、微生物および／または酵素を接触させることを特徴とする外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

(2) 外因性内分泌攪乱物質が、ハロゲン化ビフェニル類、ハロゲン化ダイオキシン類、アルキルフェノール類、ビスフェノール類およびフタル酸エステル類の群から選択される物質である前記(1)に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

(3) 微生物が、糸状菌である前記(1)または(2)に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

(4) 糸状菌が、トラメテス(*Trametes*)属、シゾフィラム(*Schizophrylum*)属、プレウロタス(*Pleurotus*)属、ファネロキーテ(*Phanerochaete*)属、フナリア(*Funaria*)属、レン

チナス (*Lentinus*) 属、メルリウス (*Merulius*) 属、ジェルカンデラ (*Bjerkandera*) 属、フィクノポラス (*Pycnoporus*) 属、アガリクス (*Agaricus*) 属、フォリオータ (*Pholiota*) 属、フラムリナ (*Flammulina*) 属、ガノデルマ (*Ganoderma*) 属、ダエダレオプシス (*Daedaleopsis*) 属、オーリキュラリア (*Auricularia*) 属、セリポリオプシス (*Ceriporiopsis*) 属、シアサス (*Cyathus*) 属、オーレオバシディウム (*Aureobasidium*) 属、ファボラス (*Favolus*) 属、リオフィラム (*Lyophyllum*) 属およびリゾクトニア (*Rhizoctonia*) 属に属する菌から選択される1種または2種以上の菌である前記(3)に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

(5) 酵素が、ラッカーゼ、リグニンペルオキシダーゼおよびマンガンペルオキシダーゼの群から選択される酵素である前記(1)または(2)に記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

(6) 微生物および／または酵素を担体に固定化して汚染水に接触させる前記(1)～(5)のいずれかに記載の外因性内分泌攪乱物質の分解方法。

【0009】

【発明の実施の形態】

本発明は、外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水に、微生物および／または酵素を接触させることからなる外因性内分泌攪乱物質の分解方法である。そして、この外因性内分泌攪乱物質としては、ハロゲン化ビフェニル類、ハロゲン化ダイオキシン類、アルキルフェノール類、ビスフェノール類およびフタル酸エステル類の群から選択される物質が挙げられる。

【0010】

ここで、ハロゲン化ビフェニル類については、例えば、オルト位以外に塩素原子が置換したコプラナー (*Coplanar*) PCB類があり、具体的には3, 3', 4, 4' -テトラクロロビフェニル、3, 3', 4, 4', 5 -ペンタクロロビフェニル、3, 3', 4, 4', 5, 5' -ヘキサクロロビフェニルなどの化合物が挙げられる。

【0011】

また、ハロゲン化ダイオキシン類としては、ジベンゾーp-ジオキシンやジベンゾフランが有する2個のベンゼン環の水素原子が塩素原子や臭素原子により置換された化合物の総称であり、例えば、2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン、1, 2, 3, 7, 8-ペントクロロジベンゾ-p-ジオキシン、1, 2, 3, 4, 7, 8-ヘキサクロロジベンゾ-p-ジオキシン、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-ヘプタクロロジベンゾ-p-ジオキシン、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-オクタクロロジベンゾ-p-ジオキシン、2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾフラン、1, 2, 3, 7, 8-ペントクロロジベンゾフラン、2, 3, 4, 7, 8-ペントクロロジベンゾフラン、1, 2, 3, 4, 7, 8-ヘキサクロロジベンゾフラン、1, 2, 3, 6, 7, 8-ヘキサクロロジベンゾフラン、1, 2, 3, 7, 8-ヘキサクロロジベンゾフラン、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-ヘプタクロロジベンゾフラン、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-オクタクロロジベンゾフランなどの化合物が挙げられる。

【0012】

さらに、アルキルフェノール類としては、例えば、p-ターシャリーブチルフェノール、ペンチルフェノール、オクチルフェノール、ノニルフェノールなどが挙げられ、ビスフェノール類としては、2, 2-ビス(4-ヒドロキシフェニル)プロパン、1, 1-ビス(4-ヒドロキシフェニル)シクロヘキサンなどが挙げられる。また、フタル酸エステル類としては、ジブチルフタレートやブチルベンジルフタレート、ジ-2-エチルヘキシルフタレートなどが挙げられる。

【0013】

そして、これら外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水は、例えば、ハロゲン化ビフェニル類や塩素化ダイオキシン類については、都市ごみや産業廃棄物の焼却施設などからの焼却灰や排煙中の飛灰によって汚染された廃水があり、またアルキルフェノール類やビスフェノール類、フタル酸エステル類は、これら化学品の製造設備などにおける廃水、廃液などがある。これら廃水や廃液は、通常、汚水浄化設備により浄化して環境汚染物質の外部への漏出を防止しているが、その

設備や機器の修理点検や洗浄などの様々な作業を必要とすることから、これら作業などに伴って廃水が自然界に排出されることがある。これら設備で発生する廃水は、主として洗浄廃水である。

【0014】

このような外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水との接触に用いる微生物としては、糸状菌が好適に用いられる。この糸状菌の中でも、トラメテス (*Trametes*) 属、シゾフィラム (*Schizophyllum*) 属、プレウロタス (*Pleurotus*) 属、ファネロキーテ (*Phanerochaete*) 属、フナリア (*Funalia*) 属、レンチナス (*Lentinus*) 属、メリウス (*Merulius*) 属、ジェルカンデラ (*Bjerkandera*) 属、フィクノポラス (*Pycnoporus*) 属、アガリクス (*Agaricus*) 属、フォリオータ (*Pholiota*) 属、フラムリナ (*Flammulina*) 属、ガノデルマ (*Ganoderma*) 属、ダエダレオプシス (*Daedaleopsis*) 属、オーリキュラリア (*Auricularia*) 属、セリポリオプシス (*Ceriporiopsis*) 属、シアサス (*Cyathus*) 属、オーレオバシディウム (*Aureobacodium*) 属、ファボラス (*Favolus*) 属、リオフィラム (*Lyophyllum*) 属およびリゾクトニア (*Rhizoctonia*) 属に属する菌から選択される1種または2種以上の菌が特に好ましい。

【0015】

これら糸状菌の中でも、さらに具体的には、トラメテス属においてはトラメテス・ベルシカラ (*Trametes versicolor*) や、トラメテス・コンソールス (*Trametes consors*)、シゾフィラム属においてはシゾフィラム・コムネ (*Schizophyllum commune*)、プレウロタス属においてはプレウロタス・オストレアタス (*Pleurotus ostreatus*)、ファネロキーテ属においてはファネロキーテ・クリソスピリウム (*Phanerochaete chrysosporium*)、フナリア属においてはフナリア・トロッギー (*Funalia trogii*)、レンチナス属においてはレンチナス・レピデウス (*Lentinus lepideus*)

deus)、メルリウス属においてはメルリウス・トレメローサス (*Merulius tremellosus*)、ジェルカンデラ属においてはジェルカンデラ・アダスタ (*Bjerkandera adusta*)、フィクノポラス属においてはフィクノポラス・コッシネウス (*Pycnoporus coccineus*)、アグリクス属においてはアグリクス・ビスピラス (*Agricus bisporus*)、フォリオータ属においてはフォリオータ・アディボーサ (*Pholiota adiposa*)、フラムリナ属においてはフラムリナ・ベルティペス (*Flammulina velutipes*)、ガノデルマ属においてはガノデルマ・ルシダム (*Ganoderma lucidum*)、ダエダレオプシス属においてはダエダレオプシス・スチラシナ (*Daedaleopsis stylacina*)、オーリクラリア属においてはオーリクラリア・オリキュラージュデ (*Auricularia auricula-judae*)、セリポリオプシス属においてはセリポリオプシス・サバミスボラ (*Ceriporiopsis subvermispora*)、シアサス属においてはシアサス・ステコレウス (*Cyathus stercoreus*)、オーレオバシディウム属においてはオーレオバシディウム・プルランス (*Aureobasidium pullurans*)、ファボラス属においてはファボラス・アキュラリウス (*Favolus arcularius*)、リオフィラム属においてはリオフィラム・デカステス (*Lyophyllum decastes*)、リゾクトニア属においてはリゾクトニア・プラティコラ (*Rhizoctonia praticola*) などが挙げられる。

【0016】

また、外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水との接触に用いる酵素としては、ラッカーゼやリグニンペルオキシダーゼ、マンガンペルオキシダーゼが好適に用いられる。これら酵素は、市販品でもよいし、上記の糸状菌が生産して放出したものを活性炭やイオン交換樹脂などにより吸着させて用いてもよいし、糸状菌とこれが放出した酵素とを同時に用いて、汚染水中の外因性内分泌攪乱物質を分解するようにしてもよい。

【0017】

これら糸状菌または酵素によって汚染水中の外因性内分泌攪乱物質を分解するにあたっては、汚染水処理槽において、糸状菌を汚染水に懸濁状で増殖させる方法を採用してもよいし、糸状菌をウレタンフォームや織物などの担体に担持した固定化菌体を汚染水中に浸漬する方法を採用してもよい。いずれの方法による場合にも、これら菌の増殖に必要な栄養源と酸素を供給する。この栄養源としては、~~グルコース、デンプン、アンモニウム塩や硝酸塩などの可溶性栄養源や、フスマ、米ぬか、コーンプラン、大豆カス、ナタネカス、カンキツ類の果皮などの農産廃棄物~~が好適に用いられる。

【0018】

そして、この糸状菌または酵素による汚染水中の外因性内分泌攪乱物質の分解を行う際の条件としては、汚染水処理槽内の温度を10~85℃、好ましくは20~60℃とし、pHを3~10、好ましくは4~10として、回分式または連続式において処理をすればよい。この処理期間中、固定化菌体や固定化酵素あるいは処理水を処理槽内で循環させるのが好ましい。

【0019】

このようにして外因性内分泌攪乱物質の分解処理が終了した後には、フィルター や遠心分離機により、固定化菌体、固定化酵素、懸濁状の菌体および栄養源を、処理水と分離し、処理水は一般的の廃水と同様に放流すればよい。また、ここで回収された固定化菌体、固定化酵素、懸濁状の菌体および栄養源は、さらに繰返して使用することができる。

【0020】

【実施例】

つぎに、実施例により、本発明をさらに具体的に説明する。

【実施例1~28】

培地成分として、オートミール25g、ペプトン1gおよびショ糖10gを、水1リットルに懸濁させて攪拌しながら、これを内容積500ミリリットルのマイヤーフラスコに、100ミリリットルづつ分注した。この操作を繰り返して、28個の培地懸濁水入りのマイヤーフラスコを用意した。そして、これらマイヤーフラスコに入れた培地懸濁水のうちの一部のものには、さらにイオン交換樹脂

〔住友化学工業社製；XAD874〕を1gづつ添加した。

【0021】

つぎに、これらマイヤーフラスコ中の培地懸濁水を121℃において、20分間の殺菌処理をした。そして、これらマイヤーフラスコ中の培地懸濁水に、第1表～第3表に示す各種の糸状菌を接種し、26℃において、2週間にわたり糸状菌の培養をした。

【0022】

そして、このマイヤーフラスコ中での2週間の培養後に、この培養液中に、第1表～第3表に示す各種の外因性内分泌攪乱物質を添加し、32℃において、24時間振とうして、外因性内分泌攪乱物質と糸状菌との接触による外因性内分泌攪乱物質の分解を行った。これら外因性内分泌攪乱物質の添加時には、所定量の外因性内分泌攪乱物質をアセトンに溶解させて添加した。

【0023】

このようにして得られた分解生成物中の外因性内分泌攪乱物質の残存量を測定して、外因性内分泌攪乱物質の分解率を算出した。その結果を第1表～第3表に示す。

【0024】

【表1】

第1表

実施例	糸状菌の種類	イオン 交換樹 脂添加	外因性内分泌擾乱物質		分解率 (%)
			種類	添加量	
1	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	有	P-ターシャリーブチル フェノール	2.3mg	9.8
2	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	無	P-ターシャリーブチル フェノール	2.3mg	9.2
3	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	有	ノルフェノール	1.9mg	9.4
4	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	無	ノルフェノール	1.9mg	8.9
5	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	有	4-(1-プロペニル) フェノール	2.3mg	9.9
6	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	無	4-(1-プロペニル) フェノール	2.3mg	9.7
7	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	有	チルタレート	1.1mg	9.4
8	トマテス・ベルシカーレ (IFO 9791)	無	チルタレート	1.1mg	8.8
9	トマテス・コンソーリス (IFO 8348)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	9.1
10	シワライム・コムネ (IFO 6505)	有	オクチルフェノール	1.6mg	9.3

【0025】

【表2】

第2表

実施例	糸状菌の種類	イオン 交換樹 脂添加	外因性内分泌擾乱物質		分解率 (%)
			種類	添加量	
1 1	シワライム・コムネ (IFO 6505)	無	オキシフェノール	1.6mg	8 8
1 2	シワライム・コムネ (IFO 6505)	有	ベチルフェノール	1.2mg	8 3
1 3	シワライム・コムネ (IFO 6505)	無	ベンチルフェノール	1.2mg	7 1
1 4	シワライム・コムネ (IFO 6505)	有	ビスフェノール-A	2.4mg	9 4
1 5	シワライム・コムネ (IFO 6505)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	9 5
1 6	シワライム・コムネ (IFO 6505)	有	ナカルベンジルカタレート	1.0mg	9 9
1 7	シワライム・コムネ (IFO 6505)	無	ナカルベンジルカタレート	1.0mg	9 9
1 8	ブレウロタス・オストレアタス (IFO 30106)	有	ビスフェノール-A	2.4mg	8 1
1 9	ブレウロタス・オストレアタス (IFO 30106)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	6 8
2 0	フーボラス・ア-キュラリウス (IFO 4959)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	9 6

[0026]

【表3】

第3表

実施例	糸状菌の種類	イオン 交換樹 脂添加	外因性内分泌攪乱物質		分解率 (%)
			種類	添加量	
2 1	フオリオータ・アディボーザ (IFO 30359)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	8 2
2 2	リオフィラム・テカステス (IFO 31167)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	7 3
2 3	ビノボラス・コッシュネウス (IFO 4923)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	8 8
2 4	アガリクス・ビスピラス (IFO 30774)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	9 6
2 5	タエグレオブシス・スチラシナ (IFO 4910)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	9 8
2 6	ガノテルマ・ルシダム (IFO 31863)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	7 9
2 7	オーリキュラリア・オーリキュ ラージュデ (IFO 5949)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	8 6
2 8	リクトニア・ブライコラ (IFO 16129)	無	ビスフェノール-A	2.4mg	6 8

【0027】

【発明の効果】

本発明によれば、外因性内分泌攪乱物質を含む汚染水に、微生物および／または酵素を接触させるだけの簡単な操作により、多大のエネルギーを消費することなく外因性内分泌攪乱物質を分解して無害化できるという効果が得られる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 汚染水に含まれる外因性内分泌攪乱物質を、簡略に、かつ多大のエネルギーを消費することなく分解して無害化する方法を提供する。

【解決手段】 外因性内分泌攪乱物質を含有する汚染水に、糸状菌などの微生物および／または酵素を接触させることにより、外因性内分泌攪乱物質を分解する方法。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2000-213613
受付番号	50000888690
書類名	特許願
担当官	第六担当上席
作成日	0095 平成12年 7月17日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成12年 7月14日

次頁無

出願人履歴情報

識別番号 [000183646]

1. 変更年月日 1990年 8月 8日

[変更理由] 新規登録

住所 東京都千代田区丸の内3丁目1番1号

氏名 出光興産株式会社

}